

Humor Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense

Vívian Romero Santiago

Perita legista da Perícia Forense do Ceará, Especialista em Farmacologia Legal.

Email: vivisantiago@hotmail.com

Auriana Serra Vasconcelos

Mestranda em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará.

Natália Ferreira de Oliveira

Farmacêutica graduada pela Universidade Federal do Ceará.

Manuela Chaves Loureiro Cândido

Perita criminal da Perícia Forense do Ceará, Mestre em Química.

Bruna Estefânia Carvalho dos Santos

Perita legista da Perícia Forense do Ceará, Mestre em Patologia.

José Nilson Ferreira Gomes Neto

Professor da Universidade de Fortaleza, Mestre em Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

A toxicologia forense se define como uma das disciplinas técnico-científica que constituem as denominadas ciências forenses. Essa envolve de maneira ampla a pesquisa de drogas em diversas matrizes biológicas. Não é possível falar de Toxicologia Forense sem falar da toxicologia analítica. A detecção de drogas de abuso nos casos postmortem pode apresentar dificuldade quando comparado com espécimes coletadas “in vivo”. A partir dessas dificuldades que são encontradas nas amostras biológicas esse trabalho pretende apresentar uma alternativa para ser utilizada em screening toxicológico, tendo como objetivo principal avaliar a possibilidade da utilização do humor vítreo como espécime biológico para detecção de toxicantes no post-mortem. Para isso será realizada uma revisão da literatura que não somente trará conceitos iniciais da amostra como também apresentará vantagens e desvantagens dessa amostra quando comparada a outras atualmente utilizadas. Trata-se de uma revisão da literatura a partir de artigos científicos encontrados de 2003 a 2013. A pesquisa utilizou as bases de dados Scienccdirect, Scielo e Lilacs. Pode-se definir humor vítreo como um gel situado por trás da lente do olho. É um espécime que pode ser coletada em investigações médico-legais na rotina durante as necropsias. O uso desse espécime com a finalidade de dosar dois eletrólitos, glicose e compostos de azoto, é bem elucidado. Em alguns casos a atividade microbiana intensa e a fermentação da glicose que acontecem posmortem podem ser responsáveis por uma produção de álcool. Por essa razão, outras amostras são insuficientes para concluir um laudo medico legal. Portanto, a utilização do humor vítreo para dosagem de algumas substâncias tem grande valor. Dentre as principais funções consideradas essenciais da medicina legal, incluem-se as investigações forenses, que envolvem em sua maioria, a causa de morte. A partir desta revisão, foi possível determinar o humor vítreo como espécime biológico que, apesar de ainda não ter sua

utilização consolidada, apresenta inúmeras vantagens, podendo ser utilizado mesmo com a degradação do organismo vivo.

Palavras-chave: Humor Vítreo, Espécimes Biológicos, Detecção de Toxicantes.

ABSTRACT

Forensic toxicology is defined as one of the technical and scientific discipline that constitute the so-called forensic sciences. This involves broadly drug research in various biological matrices. Is not possible to speak about forensic toxicology without mentioning analytical toxicology. The detection of drugs of abuse in postmortem cases can present difficulties when compared with specimens collected "in vivo". From these difficulties, found in biological samples, this work aims to provide an alternative to toxicological screening, having as main objective to evaluate the possibility of using the vitreous humor as a biological specimen for the detection of toxicants in post-mortem. This literature review will not only introduce the initial concepts of sample but also present advantages and disadvantages of this particular sample when compared to others currently in used. A review of scientific articles from 2003 to 2013 at the bases science direct, lilacs and scielo, were done. Humor vitreous can be defined as a gel located behind the lens of the eye. It is a specimen that can be collected in legal investigations in routine during autopsies. The use of this specimen in place of the electrolytes, glucose and nitrogen compounds, is elucidated. In some cases, intense microbial activity and fermentation of glucose occurring posmortem may be responsible for the production of alcohol. For this reason, other samples are insufficient in order to complete a medico legal report. Therefore, the use of vitreous humor has great value. Among the main functions considered essential, forensic includes forensic investigations,

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

involving mostly the cause of death. From this review, we can determine the vitreous body as a biological specimen; although it has not yet had its use consolidated, it presents a larger number of advantages, including the possibility of use even with the deterioration of the living organism.

Keywords: Vitreous Humor, Biological Specimens, Detection of Toxicants.

INTRODUÇÃO

A toxicologia forense é definida como uma das disciplinas técnico-científica que constituem as denominadas ciências forenses. Essa envolve de maneira ampla a pesquisa de drogas em diversas matrizes biológicas (Society of Forensic Toxicologists 2013).

Não é possível falar de toxicologia forense sem falar da toxicologia analítica. Isso faz com que o uso das ferramentas apresentadas para análises qualitativas, como a química analítica, possam aumentar a análise de quantidade de substâncias de interesse toxicológico que podem se apresentar em diferentes matrizes biológicas (GARCÍA-RODRÍGUEZ e GÍMENEZ 2005).

A detecção de drogas de abuso nos casos post-mortem pode apresentar uma maior dificuldade quando comparado com espécimes coletadas “in vivo”. Quando se vai determinar a concentração de drogas em matrizes biológicas é importante se ter conhecimento da estabilidade da substância em tais tecidos. Esta situação é mais relevante em toxicologia forense, onde os tecidos são susceptíveis a exposição por períodos prolongados. A extensão da alteração química no intervalo post-mortem, ou mesmo no metabolismo que ocorre após a morte, pode afetar a interpretação dos resultados. Como algumas drogas são conhecidas pela sua natureza instável é mais indicado utilizar as amostras biológicas que não sofrem essa alteração (ROBERTSON e DRUMMER 1995; MORIYA e HASHIMOTO 1996).

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

Uma vantagem de amostras coletadas do post-mortem quando comparadas as situações clínicas habituais é a diversidade de amostras que podem ser coletadas. A escolha da amostra é muitas vezes determinada pelo caso que está sendo investigado, no entanto, as espécimes mais comuns utilizadas para a análise de drogas de abuso em caso de necropsia são o sangue, no fígado e na urina, ou ainda, músculo, tecido adiposo, pulmão, cérebro, ossos, e até mesmo, em casos de corpos em estado de putrefação, pode-se coletar insetos que estejam alojados ao hospedeiro. No entanto, espécimes como humor vítreo e cabelo tem usos importantes em casos de rotina, enquanto cérebro, músculo, gordura, osso e derrames pleurais tem aplicações mais especializadas (DRUMMER 2004).

A qualidade das perícias depende dos avanços científicos, aspecto fundamental da toxicologia forense. É necessário que ocorra a implementação correta de metodologias validadas para quantificação de tóxicos. Aliado a isso, é indispensável realizar posteriormente uma interpretação adequada baseada na quantificação dessas substâncias tóxicas (GARCÍA-RODRÍGUEZ e GÍMENEZ 2005).

A partir das dificuldades encontradas nas amostras biológicas, esse trabalho pretende apresentar uma alternativa para ser utilizada em screening toxicológico, tendo como objetivo principal avaliar a possibilidade da utilização do humor vítreo como espécime biológico para detecção de toxicantes no post-mortem. Para isso será realizada uma revisão da literatura que não somente trará conceitos iniciais da amostra como também apresentará vantagens e desvantagens dessa amostra quando comparada a outras atualmente utilizadas.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão da literatura a partir de artigos científicos encontrados de 2003 a 2013. A pesquisa utilizou as bases de dados Sciencedirect, Scielo e Lilacs, incluindo estudos publicados em português, SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

inglês ou espanhol. Após a leitura dos artigos encontrados nas bases de dados, foram selecionados todos os relacionados com o tema, correspondendo a um total de 20 artigos.

REVISÃO DA LITERATURA

Definição do humor vítreo

Pode-se definir humor vítreo como um gel situado por trás da lente do olho (BOST 1997). Embora seja tecnicamente classificado como gel pode ser considerado um fluido, que pode ser viscoso dependendo de sua constituição. Pode ser constituído por colágeno e outras proteínas, responsáveis por sua viscosidade. É um espécime que pode ser coletado em investigações médico-legais na rotina durante as necropsias. O uso desse espécime com a finalidade de dosar dois eletrólitos, glicose e compostos de azoto, é bem elucidado (SUNSHINE 1990). Além disso, alguns autores utilizam essa amostra na rotina a testes de etanol (LEVINE 2002). O humor vítreo recebeu recentemente interesse como matriz para a detecção de drogas de abuso e relatos foram publicados descrevendo estudos da detecção de opiáceos, anfetaminas e cocaína e metabolitos (ZHU et al. 2002; ZHU et al. 2002; ZHU et al. 2005; ZHU et al. 2005; Li et al. 2006).

Vantagens apresentadas pelo humor vítreo em relação a outras amostras biológicas

Para escolha da amostra biológica mais adequada para utilização nas análises deve ser examinado tanto o estado do corpo, como também o tempo entre a morte e a autópsia. Deve-se ressaltar que as condições ambientais (temperatura e umidade), e a natureza do espécime coletado para análise, são fatores importantes a considerar.

Em alguns casos a atividade microbiana intensa e a fermentação da glicose que acontecem post-mortem podem ser responsáveis por uma produção de álcool (KUGELBERG e JONES 2007). Além disso, pode ocorrer

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

uma difusão do álcool contido no estômago para os locais aonde serão realizadas coletas. Outro fator importante é o tempo entre a ingestão do álcool e a morte (COOK et al. 2000 *apud* KUGELBERG e JONES 2007). Por essa razão, algumas amostras biológicas como o sangue são insuficientes para concluir um laudo medico legal.

Tabela 1. Vantagens dos espécimes biológicos.

Espécimes biológicos	Vantagens
Sangue	Amostra preferencialmente utilizada para maioria das substâncias
Bile	Morfina, buprenorfina, tramadol, benzodiazepínicos, MDMA
Osso	A análise qualitativa da morfina, benzodiazepínicos, anfetaminas
Cérebro	Medicamentos de ação central, por exemplo, morfina, cocaína, possuem os dados da literatura limitados.
Tecido adiposo	THC e outras drogas, porém pouca literatura para interpretar os resultados
Conteúdo gástrico	Drogas/Venenos administrados por via oral
Cabelo	Todas as substâncias, substâncias particularmente básicos, e a maioria dos metais
Músculo	Uma quantidade grande drogas, porém a literatura contém poucos dados para interpretar concentrações
Líquido pleural	A maioria das drogas, mas as drogas sujeitas a alterações de concentração, portanto, difíceis de interpretar
Humor Vítreo	Etanol, algumas análises bioquímicas, por exemplo, glicose, uréia, creatinina.

Portanto, a utilização do humor vítreo para dosagem de algumas substâncias tem grande valor (DRUMMER 2004).

Importância das amostras biológicas para medicina legal

Dentre as principais funções consideradas essenciais da medicina legal se incluem as investigações forenses, que envolvem em sua maioria a causa de morte. Para determinar a causa da morte é necessário que seja feita uma interpretação dos exames laboratoriais usando um amplo espectro de marcadores que envolvem a morfologia, toxicologia, microbiologia, bioquímica e biologia molecular. Além disso, a bioquímica realizada no post-

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

mortem tornou-se um procedimento auxiliar importante na determinação da causa e hora da morte (COE 1993; ZHU et al. 2002; ZHU et al. 2002, ZHU et al. 2005, ZHU et al. 2005; LI et al. 2006, ZHU et al. 2006; ZHU et al. 2006; ZHU et al. 2007; ZHU et al. 2007). A possível utilidade da investigação de biologia molecular tem sido também descrita (ISHIDA et al. 2002; ZHAO et al. 2006; ZHAO et al. 2006; ZHU et al. 2008).

CONCLUSÃO

Existe um desafio grande para os toxicologistas relacionado as amostras post-mortem. Dentre as principais variáveis está a seleção de amostras que sejam apropriadas para englobar análises de variadas drogas. Para isso é imprescindível que se saiba qual substância será pesquisada e a partir disso adequar a espécie que será utilizada.

A partir desta revisão, foi possível determinar o humor vítreo como espécie biológica que, apesar de ainda não ter sua utilização consolidada, é uma das amostras que apresenta um maior número de vantagens, podendo ser utilizada mesmo com a degradação do organismo vivo.

Sugere-se, portanto, que estudos posteriores venham a padronizar e/ou validar metodologias com este espécime.

REFERÊNCIAS

BOST, R.O. Analytical toxicology of vitreous humor. In: Wong SHY, Sunshine I, editors. **Handbook of analytical therapeutic drug monitoring and toxicology**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1997.

COE, J.I. Postmortem chemistry update, emphasis on forensic application. **Am J Forensic Med. Pathol.**, v. 14, p. 91–117, 1993.

COOK, D.S.; BRAITHWAITE, R.A.; HALE, K.A. Estimating antemortem drug concentrations from postmortem blood samples: the influence of postmortem Redistribution, **J. Clin. Pathol**, v. 53, p. 282–285, 2000.

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

DRUMMER, O.H. Postmortem toxicology of drugs of abuse, *Forensic. Sci. Int.*, vol. 142, p.101-113, 2004.

GARCÍA-RODRÍGUEZ, S.; GÍMENEZ, M.P. Recursos humanos en un laboratorio de toxicología forense. *Rev. Toxicol.*, v. 22, p. 1-11, 2005.

ISHIDA K, ZHU B-L, MAEDA H. A quantitative RT-PCR assay of surfactant-associated protein A1 and A2 mRNA transcripts as a diagnostic tool for acute asphyxia death. *Leg. Med.*, v. 4, p. 7–12, 2002.

KUGELBERG, F.C.; JONES, A.W. *Interpreting results of ethanol analysis in postmortem specimens: A review of the literature.* *Forensic. Sci. Int.*, v. 165, p. 10-29, 2007.

LEVINE, B. Alcohol. In: **Principles of forensic toxicology**. Washington, DC: AACC Press, 2002.

LI, D-R.; ZHU B-L.; ISHIKAWA, T.; ZHAO, D.; MICHIEUE, T.; MAEDA, H. Postmortem serum protein S100B levels with regard to the cause of death involving brain damage in medico legal autopsy cases. *Leg. Med.*, v. 8, p. 71–77, 2006.

MORIYA, F.; HASHIMOTO, Y. Postmortem stability of cocaine and coca ethylene in blood and tissues of humans and rabbits, *J. Forensic. Sci.*, v. 41, p. 612–616, 1996.

ROBERTSON, M.D.; DRUMMER, O.H. Postmortem drug metabolism by bacteria, *J. Forensic. Sci.*, v. 40 p. 382–386, 1995.

Society of forensic toxicologists. **What is Forensic Toxicology?** Available at: [http://www.softtox.org/images/stories/otherfiles/what is forensic toxicology](http://www.softtox.org/images/stories/otherfiles/what_is_forensic_toxicology).

Pdf. Acesso em 01/11/2013.

SUNSHINE, I. Forensic postmortem toxicology. In: Froede RC, editor. **Handbook of forensic pathology**. Northfield, IL: College of American Pathologists, 1990.

ZHAO, D.; ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; QUAN, L.; LI, D-R.; MAEDA, H. Real-time RT-PCR quantitative assays and postmortem degradation profiles of erythropoietin, vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor 1 alpha mRNA transcripts in forensic autopsy materials. *Leg. Med.*, v. 8, p. 132–136, 2006.

SANTIAGO, Vivian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. *Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade*, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

ZHAO, D.; ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; LI, D-R.; MICHIUE, T.; MAEDA, H. Quantitative RT-PCR assays of hypoxia-inducible factor 1a, erythropoietin and vascular endothelial growth factor mRNA transcripts in the kidneys with regard to the cause of death in medico legal autopsy. **Leg. Med.**, v. 8, p. 258–263, 2006.

ZHU, B-L.; ISHIDA, K.; QUAN, L.; LI, D.R.; TANIGUCHI, M.; FUJITA, M.Q.; et al. Pulmonary immunohistochemistry and serum levels of a surfactant-associated protein A in fatal drowning. **Leg. Med.**, v. 4, p. 1–6, 2002.

ZHU B-L, ISHIDA K, QUAN L, TANIGUCHI M, ORITANI S, LI D-R, et al. Postmortem serum uric acid and creatinine levels in relation to the causes of death. **Forensic Sci. Int.**, v. 125, p. 59–66, 2002.

ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; MICHIUE, T.; QUAN, L.; MAEDA, H. Postmortem serum endotoxin level in relation to the causes of death. **Leg Med.**, v. 7, p. 103–109, 2005.

ZHU, B-L., ISHIKAWA T.; MICHIUE, T.; LI, D-R.; ZHAO, D.; QUAN, L.; et al. Evaluation of postmortem urea nitrogen, creatinine and uric acid levels in pericardial fluid in forensic autopsy. **Leg. Med.**, v. 7, p. 287– 292, 2005.

ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; MICHIUE, T.; LI, D-R.; ZHAO, D.; ORITANI, S.; et al. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 1: Analysis with special regard to traumatic causes of death. **Leg. Med.**, v. 8, p. 86–93, 2006.

ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; MICHIUE, T., LI, D-R.; ZHAO, D.; KAMIKODAI, Y. et al. Postmortem cardiac troponin T levels in the blood and pericardial fluid. Part 2: Analysis for application in the diagnosis of sudden cardiac death with regard to pathology. **Leg. Med.**, v. 8, p. 94–101, 2006.

ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; MICHIUE, T.; LI, D.R.; ZHAO, D.; QUAN, L.; et al. Postmortem serum catecholamine levels in relation to the cause of death. **Forensic Sci. Int.**, v. 173, p. 122–129, 2007.

ZHU, B-L.; ISHIKAWA, T.; MICHIUE, T.; LI, D.R.; ZHAO, D.; TANAKA, S.; et al. Postmortem pericardial natriuretic peptides as markers of cardiac function in medico-legal autopsies. **Int. J. Legal Med.**, v. 121, p. 28–35, 2007

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalho dos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.

ZHU, B-L.; TANAKA, S.; ISHIKAWA, T.; ZHAO, D.; LI, D.R.; MICHIEUE, T.; et al. Forensic pathological investigation of myocardial hypoxia-inducible factor-1 alpha, erythropoietin and vascular endothelial growth factor in cardiac death. **Leg. Med.**, v. 10, p. 11–19, 2008.

SANTIAGO, Vívian Romero; VASCONCELOS, Auriana Serra; OLIVEIRA, Natália Ferreira de; CÂNDIDO, Manuela Chaves Loureiro; SANTOS, Bruna Estefânia Carvalhos; NETO, José Nilson Ferreira Gomes. Humo Vítreo: Uma amostra biológica de interesse forense. **Revista Intertox-EcoAdvisor de Toxicologia Risco Ambiental e Sociedade**, v. 8, n. 1, p. 08-18, fev. 2015.